

水产品中多氯联苯残留量的气相色谱法测定

孙伟红^{1,2}, 冷凯良^{1,2}, 王志杰^{1,2}, 翟毓秀^{1,2}, 谭志军^{1,2}

(1. 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室, 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 2. 国家水产品质量监督检验中心, 山东 青岛 266071)

摘要: 研究并建立了水产品中的 7 种多氯联苯残留的气相色谱检测方法, 用该方法对鱼、虾、贝、蟹、甲鱼等多种水产动物中多氯联苯的残留量进行了分析测定。结果表明, 7 种多氯联苯的峰面积与其质量浓度在 1.0~200 ng/mL 范围内呈线性关系, 相关系数均大于 0.999。鳕鱼和牡蛎样品中添加 1.0 ng/g 的多氯联苯标准液时, 多氯联苯的回收率为 81.33%~85.33%; 相对标准偏差为 7.33%~9.21%。方法的测定低限为 0.3 ng/g。另外, 通过优化前处理方法, 使用硅胶净化柱, 缩短了样品的前处理时间, 减少了试剂消耗, 提高了回收率。

关键词: 多氯联苯; 水产品; 测定; 气相色谱法

中图分类号: TS254.7; O657.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-3096(2008)02-0002-05

多氯联苯(Polychlorinated Biphenyls, PCBs)是一类含不等量氯原子和苯环的氯化烃化合物, 化学性质稳定, 曾经在工业上用途广泛, 但由于其在自然环境中很难降解, 半衰期较长, 仍可通过食物链富集并直接危害人类的健康, 已引起世界各国关注。多氯联苯不但能引起人体痤疮、肝损伤乃至致癌等危害, 而且还能使人和动物机体的生殖系统发生严重的差错和病变, 是斯德哥尔摩公约首批优先控制的 12 种持久性有机污染物之一。生物体内 PCBs 含量的高低往往能反映其所处环境相应污染的水平, 全球环境监测系统/食品规划部分(GEMS/FOOD)中规定了 7 种/指示性 PCB0 单体(PCB28、PCB52、PCB101、PCB118、PCB153、PCB138、PCB180)作为监测 PCBs 污染情况的指标^[1], 美国食品药品监督管理局(FDA)建议水产品中 PCBs 最大允许浓度为 2 000 ng/g(湿质量)。国外有关多氯联苯测定的报道较多^[2,3,4], 国内也有多氯联苯在水产品中检测方法的报道^[5,6,7,8], 但前处理方法繁琐, 难以满足实验室快速分析的需要。为此, 本研究采用硅胶净化柱, 建立了可同时检测水产品中这 7 种多氯联苯残留的气相色谱法, 用于满足水产品质量安全检测日益严格与快速的需要。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪, 配有 ECD 检测器; 净化柱: 20.0 cm @1.0 mm(i.d) 带砂板的玻璃层析柱, 依次装入 2 g 无水硫酸钠、1 g 硅胶、1.5 g 硫酸

硅胶(将浓硫酸与硅胶以体积比 1 B 1 混合均匀)、2 g 无水硫酸钠, 己烷湿法装柱; 浓缩瓶 50 mL, 尾管容积 1 mL, 最小分度值 0.1 mL; 正己烷、高氯酸、冰乙酸、浓硫酸等试剂, 均为优级纯。

1.2 样品处理

1.2.1 样品预处理

鱼, 去鳞、去皮, 沿脊背取肌肉; 虾, 去头、去壳、去附肢, 取可食肌肉部分; 贝类, 去壳, 取可食部分; 蟹、甲鱼等, 取可食肌肉部分。样品切为不大于 0.5 cm @0.5 cm @0.5 cm 的小块后均质混匀, 置于 -18℃ 冰箱中备用。

1.2.2 提取

称取样品 5 g(精确到 0.01 g), 置于 100 mL 具塞锥形瓶中, 加入 50 mL 高氯酸与冰乙酸的混合溶液(体积比 1 B 1), 闭塞, 于 70℃ 恒温水浴中振荡约 2 h, 至样品消化完全。将消化液转移至 250 mL 分液漏斗中, 向分液漏斗中加入 20 mL 正己烷, 闭塞, 剧烈振摇 1 min, 静置分层, 将上层正己烷提取液转移于 100 mL 梨形瓶中, 再用 20 mL 正己烷重复提取 1 次, 将提取液合并于同一梨形瓶中。

收稿日期: 20070225; 修回日期: 200721230

基金项目: 农业部 948 资助项目(2006G56); 农业部标准化项目(324); 国家科技基础平台项目(2004DEA70880)

作者简介: 孙伟红(1972), 女, 山东寿光人, 助理研究员, 从事水产品中生物毒素与药物残留研究, E2mail: sunwh@ysfri.ac.cn; 冷凯良, 通讯作者, 电话: 0532285836348, E2mail: lengkl@ysfri.ac.cn

1.2.3 净化

提取液于 40 e 水浴中减压旋转蒸发至约 1 mL, 转移到预先用 10 mL 正己烷和二氯甲烷的混合液 (体积比 3 B 1) 洗脱的净化柱中, 将浓缩瓶接在净化柱下, 用 1 mL 正己烷清洗用于浓缩的 100 mL 梨形瓶 2 次, 也转移到净化柱中。用 30 mL 正己烷和二氯甲烷的混合溶剂 (体积比 3 B 1) 洗脱, 洗脱液全部收集到浓缩瓶中, 于 40 e 水浴中减压旋转蒸发至近干, 正己烷定容到 1.0 mL, 旋涡混合溶解残留物, 供气相色谱测定。

1.3 色谱条件

毛细管柱: DB5(30 m@0.25 mm i.d. @0.25 lm) 弹性石英毛细管柱, 载气为高纯氮气, 流量 1.1 mL/min, 不分流进样, 进样量 1 LL。进样口温度 240 e, 检测器温度 300 e, 柱温: 120 e, 保持 1 min, 以 3 e/min 升至 200 e, 保持 10 min, 以 2 e/min 升至 230 e, 保持 3 min, 以 10 e/min 升至 260 e, 保持 5 min, 确保所有的样品组分已经流出。

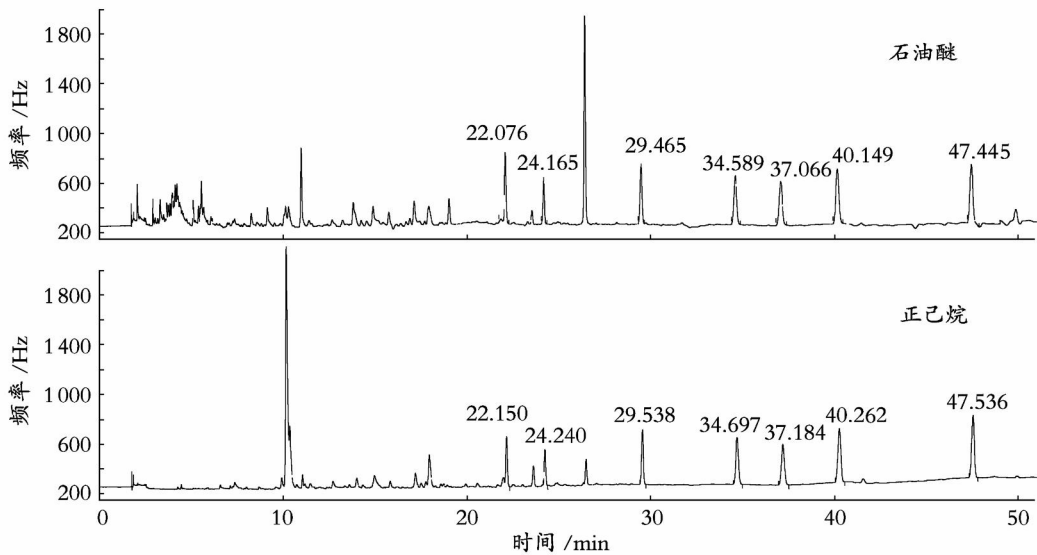


图 1 不同提取剂提取 PCBs 的色谱图比较

Fig. 1 PCBs chromatographic comparison of different reagents

2.1.2 净化柱填充比例的选择

最初, 试验设计的净化柱的填充比例为, 硅胶 B 硅胶硫酸 B 无水硫酸钠为 1.7 g B 2.5 g B 2 g, 结果多氯联苯的回收率偏低, 只有 42.7 %~ 73.7 %, 分析因为硅胶和硅胶硫酸的填入量偏多, 导致难以洗脱。根据上述问题, 将净化柱的填充比例作了改动, 硅胶 B 硅胶硫酸 B 无水硫酸钠为 1 g B 1.5 g B 4 g, 结果回收率有了很大提高, 达到 82.2 %~ 101.2 %, 见表 2。

2 结果与讨论

2.1 样品预处理方法

2.1.1 样品提取剂的选择

试验中选择了石油醚和正己烷两种试剂作为提取剂分别进行添加 PCBs 的回收率实验, 结果见表 1。石油醚为提取剂 PCBs 的回收率为 62.8 %~ 128.5%, 正己烷作为提取剂 PCBs 的回收率为 83.9%~ 94.1%, 可见正己烷作为提取剂的回收率试验结果较稳定。图 1 为采用不同提取剂提取 PCBs 的气相色谱图, 图中可以看出, 正己烷作为提取剂带来的干扰峰少。因而, 本方法选择了正己烷作为提取剂。

表 1 不同提取剂提取 PCBs 的回收率试验

提取剂	回收率(%)				
	1	2	3	4	5
石油醚	62.8	85.2	79.1	128.5	69.3
正己烷	83.9	86.5	94.1	87.2	90.2

表 2 不同净化柱填充比例的 PCBs 回收率试验

Tab. 2 PCBs recoveries of different packed proportions of purifying column

硅胶 g B 硅胶硫酸 g B 无水硫酸钠 g	回收率(%)				
	1	2	3	4	5
1.7 B 2.5 B 2	42.7	68.2	73.7	59.5	66.8
1.5 B 2 B 4	80.7	76.3	65.9	87.3	79.1
1 B 1.5 B 4	82.2	101.2	96.4	89.7	91.5

2.2 色谱条件的选择

采用气相色谱法测定多氯联苯, 这将带来许多干扰因素影响色谱测定。为了使目标化合物峰与试剂及其它干扰峰完全分开, 需使用程序升温。但是采用普通的升温程序不易将干扰峰与目标化合物峰分开, 因此, 本工作在不同的升温程序和柱流量组合的条件下进行了实验。结果发现, 升温速度过快, 样品峰分离度偏低, 影响定量结果; 柱流速过小, 会产

生峰拖尾现象, 不利于定量。图 2 是不同色谱条件下得到的多氯联苯的气相色谱图。从图中可以看出, C 的基线稳定, 分离好, 灵敏度高。因此, 最终确定色谱条件为: 初始柱温 120 e, 维持 1 min, 以 3 e / min 升至 200 e, 维持 10 min, 再以 2 e / min 升至 230 e, 维持 3 min, 再以 10 e / min 升至 260 e, 维持 5 min。柱流量 N₂ 为 1.1 mL / min。

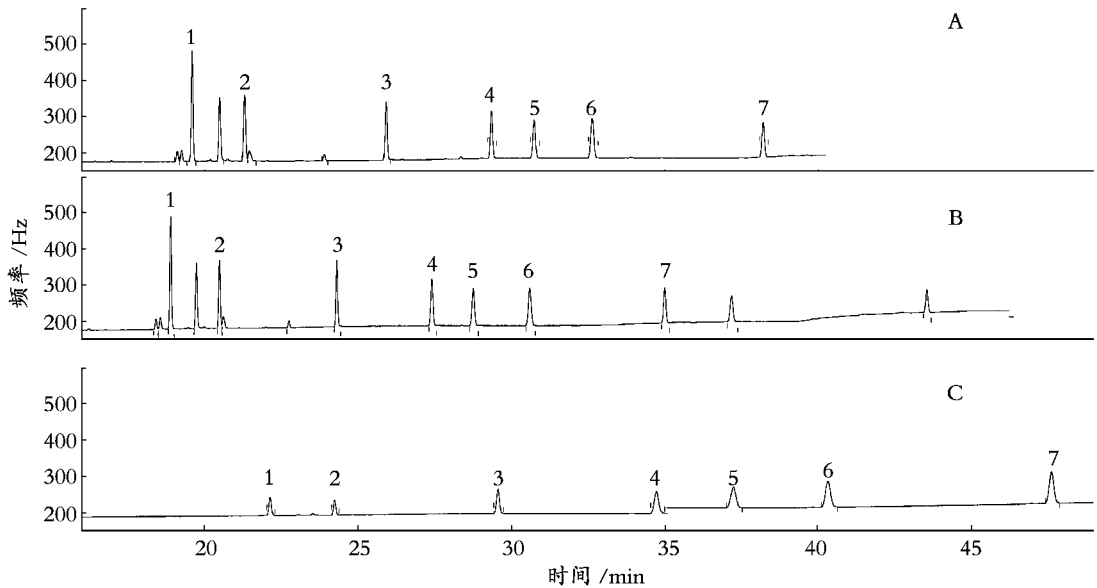


图 2 不同色谱条件下多氯联苯的气相色谱图

Fig. 2 Chromatogram of different chromatographic conditions

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 分别代表 PCB28, PCB52, PCB101, PCB118, PCB153, PCB138, PCB180

A, B, C 为 PCBs 标准溶液质量浓度, 分别为 16, 16, 5 ng / mL

1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7 represent separately PCB28, PCB52, PCB101, PCB118, PCB153, PCB138, PCB180

A, B and C are the concentrations of standard solution, as follows: 16, 16 and 5 ng / mL

2.3 线形范围

将多氯联苯标样配制成 1.0、2.0、10.0、50.0、100.0、200.0 ng / mL 的梯度系列标准溶液, 以峰面积为纵坐标, 以多氯联苯的浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 计算相关系数。在 1.0 ng / mL ~ 200.0 ng / mL 范围内均呈良好线性关系, 相关系数 R 为: 0.999 14 ~ 0.999 79。

2.4 回收率和精密度

本方法选择了具有代表性的不同基质, 分别对空白鳕鱼和牡蛎进行 1.0 ng / g 水平的加标回收率实

验, 放置 30 min, 使标样充分渗透, 7 种多氯联苯的检测结果见表 3 和表 4。从表 3 和表 4 中可以看出, 鳕鱼和牡蛎的加标回收率为 81.33% ~ 85.33%, 相对标准偏差为 7.33% ~ 9.21%, 这说明此方法符合痕量残留物检测的要求。

测定检出限是采用添加法进行实测的情况确定的。在空白鳕鱼样品中添加 PCBs 水平为 0.3 ng / g 时, 本方法仍可定量检出, 信噪比 > 5, 其色谱图见图 3, 由此可以确定本方法多氯联苯的测定低限为 0.3 ng / g。

表 3 鳙鱼添加 PCBs 回收率实验(n= 6)

Tab. 3 Recoveries of PCBs from spiked ling (n= 6)

项 目	PCBs						
	PCB28	PCB52	PCB101	PCB118	PCB153	PCB138	PCB180
w _o (ng/ g)	0	0	0	0	0	0	0
w _A (ng/ g)	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0
$\overline{w_F}$ (ng/ g)	0. 82	0. 84	0. 83	0. 82	0. 84	0. 82	0. 85
回收率 $\overline{R}\%$	81. 83	84. 00	82. 67	81. 50	83. 83	81. 67	85. 33
相对标准偏差 $\overline{S_r}\%$	7. 90	8. 14	7. 52	8. 02	8. 21	7. 33	8. 07

注: w_o为空白样品中 PCBs 质量分数; w_A为样品中添加的 PCBs 质量分数; $\overline{w_F}$ 为加标样品中实际测定的 PCBs 质量分数的平均值.

表 4 牡蛎添加 PCBs 回收率实验(n= 6)

Tab. 4 Recoveries of PCBs from oyster (n= 6)

项 目	PCBs						
	PCB28	PCB52	PCB101	PCB118	PCB153	PCB138	PCB180
w _o (ng/ g)	0	0	0	0	0	0	0
w _A (ng/ g)	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0
$\overline{w_F}$ (ng/ g)	0. 83	0. 82	0. 84	0. 81	0. 82	0. 84	0. 83
回收率 $\overline{R}\%$	82. 75	81. 69	84. 18	81. 33	82. 07	83. 76	83. 13
相对标准偏差 $\overline{S_r}\%$	8. 23	9. 21	8. 42	8. 86	8. 77	7. 46	8. 54

注: 表注同表 3

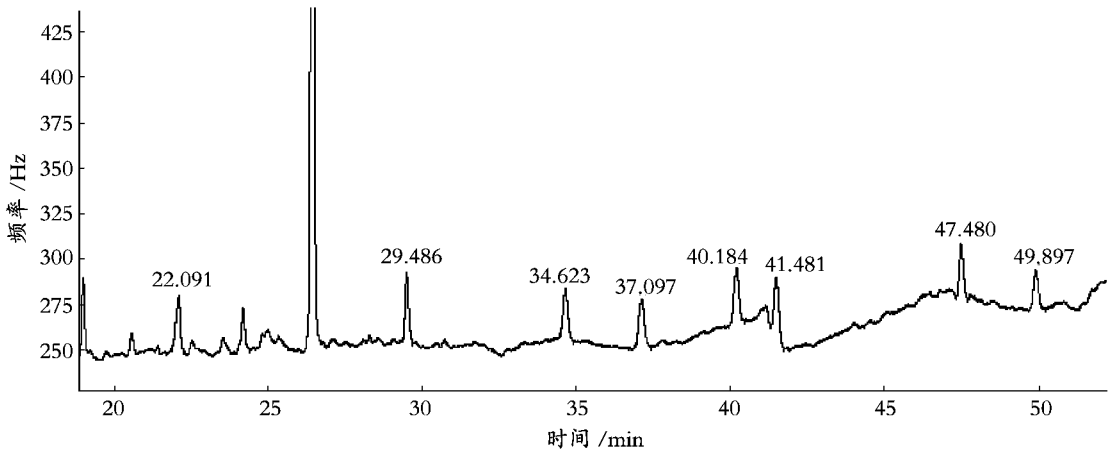


图 3 加标鳙鱼样品(加标 0.3 ng/ g)的气相色谱图

Fig.3 Chromatogram of a spiked ling muscle sample(spiked 0.3 ng/ g)

3 结论

建立了气相色谱法测定水产品中多氯联苯残留量的方法,采用电子捕获检测器,灵敏度高,多氯联苯的测定低限可达到 0.3 ng/ g。该方法前处理步骤简单,净化柱净化效果好,完全能够满足水产品中多氯联苯残留的检测。

参考文献:

[1] 王绪卿,吴永宁,邵兵,等. 色谱在食品安全分析中的应用 [M]. 北京: 化学工业出版社,2005. 66294.

[2] Ylitalo G M, Buzitis J, Krhn M M. Marine species from Atlantic and Pacific Coasts for dioxin like chlorodibiphenyls(CBs) and total CBs [J]. Arch Environ Con2 am Toxicol , 1999, 37: 202209.

- [3] Erickson M D. Analytical Chemistry of PCBs [M]. New York USA: Lewis Publishers, 1997.
- [4] Miao X S, Swenson C, Yanagihara, et al. Polychlorinated biphenyls and metals in marine species from French Frigate Shoals, North Pacific Ocean [J]. Arch Environ Toxicol, 2000, 38: 462-471.
- [5] 孙成, 许士奋, 姚书春, 等. 香港海域翡翠贻贝中多氯联苯的研究 [J]. 环境化学, 2003, 22(2): 182-187.
- [6] 于强, 李亚明, 张华, 等. 近海贻贝、牡蛎中有机氯农药和多氯联苯的气相色谱法测定 [J]. 分析测试学报, 2002, 21(2): 912-93.
- [7] 周琳, 陈大舟, 沈艳华, 等. 加速溶剂萃取用于贝类中多氯联苯的提取 [J]. 北京化工大学学报, 2005, 32(5): 106-109.
- [8] 铁晓威, 沈海涛, 韩见龙, 等. 浙江省部分地区淡水鱼中多氯联苯污染研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(10): 1241-1244.

Determination of polychlorinated biphenyls in aquatic products by gas chromatography

SUN Weizhong^{1,2}, LENG Kaizhiang^{1,2}, WANG Zhizhe^{1,2}, ZHAI Yuxiu^{1,2}, TAN Zhijun^{1,2}

(1. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture; Yellow Sea Fishery Research Institute Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 2. The National Center for Quality Supervision and Test of Aquatic products, Qingdao 266071, China)

Received: Jul. , 25, 2007

Key words: polychlorinated biphenyls; aquatic products; determination; gas chromatography

Abstract: A method for determining residues of seven kind of polychlorinated biphenyls in aquatic products was developed by gas chromatography, and analyzed in fish, shrimp, shellfish, crab, soft shell turtle, and so on. The test results showed the method was linear over the range assayed, 1.0~ 200 ng/ mL, with all correlation coefficients > 0.999. Recovery studies were performed at 1.0 ng/ g level by spiked ling muscle and scallop sample, and the average recoveries ranged from 81.33% to 85.33% with a relative standard deviation between 7.33% and 9.21%. The limit of quantification (LOQ) was 0.3 ng/ g. This method shortened the time of pretreatment and using purifying column of silica gel.

(本文编辑: 康亦兼)